

IN THE UNITED STATES PATENT & TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF :  
ATSUSHI SUZUKI, et al. : ART UNIT: 1614  
SERIAL NO: 10/810,611 :  
FILED: JUNE 5, 2002 : EXAMINER: KWON, B.Y.S.  
FOR: PREVENTIVE OR REMEDY FOR HYPERTENSION

COMMENTS ON STATEMENT OF REASONS FOR ALLOWANCE AND  
REQUEST FOR CONSIDERATION OF REFERENCES

COMMISSIONER FOR PATENTS  
Alexandria, VA 22313-1450

SIR:

Responsive to the Notice of Allowance dated January 9, 2009, Applicants request that the Examiner provide acknowledgment that References AP (FR 2 734 478) and AS (FR 2 302 745), cited on the Information Disclosure Statement filed on March 29, 2004.

References AP (FR 2 734 478) and AS (FR 2 302 745) were originally cited on the Information Disclosure Statement filed on December 26, 2002 in the parent application (US 10/161,739). Applicants note that a European Search Report was filed along with the Information Disclosure Statement to serve as a statement of relevance for the foreign language references. Applicants respectfully request that the Examiner acknowledge consideration of same by providing Applicants with an initialed copy of the Form PTO-1449 enclosed herewith listing this reference. Applicants submit herewith: (a) a copy of the Information Disclosure Statement as filed on March 29, 2004 along with a copy of the date-stamped filing receipt evidencing filing thereof, (b) a copy of the Information Disclosure Statement originally filed on December 26, 2002 in the parent application (US 10/161,739) and bearing a OIPE date-stamp

of July 22, 2004 which corresponds to the date Applicants filed a Petition in the parent application making the same request as herein, (c) a copy of the references for which consideration is requested, (d) a copy of the European Search Report, and (e) a copy of the date-stamped filing receipt from the parent application evidencing the filing of (b) - (d).

An early and favorable indication that the Information Disclosure Statement has been considered is kindly solicited.

Respectfully submitted,

OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,  
MAIER & NEUSTADT, P.C.  
Norman F. Oblon



Vincent K. Shier, Ph.D.  
Registration No.: 50,552

Customer Number

**22850**

Tel: (703) 413-3000  
Fax: (703) 413-2220  
(OSMMN 08/03)  
NFO:VKS

Form PTO 1449 (Modified)		U.S. DEPARTMENT OF COMMERCE PATENT AND TRADEMARK OFFICE		ATTY DOCKET NO. <b>251067US0CONT</b>		SERIAL NO. <b>10/810,611</b>	
LIST OF REFERENCES CITED BY APPLICANT				APPLICANT <b>Atsushi SUZUKI, et al.</b>			
				FILING DATE <b>March 29, 2004</b>		GROUP <b>1614</b>	
<b>U.S. PATENT DOCUMENTS</b>							
EXAMINER INITIAL		DOCUMENT NUMBER	DATE	NAME	CLASS	SUB CLASS	FILING DATE IF APPROPRIATE
	AA						
	AB						
	AC						
	AD						
	AE						
	AF						
	AG						
	AH						
	AI						
	AJ						
	AK						
	AL						
	AM						
	AN						
<b>FOREIGN PATENT DOCUMENTS</b>							
		DOCUMENT NUMBER	DATE	COUNTRY	TRANSLATION YES                      NO		
	AO	2 734 478	11/29/1996	France			
	AP	2 302 745	10/01/1976	France			
	AQ						
	AR						
	AS						
	AT						
	AU						
	AV						
<b>OTHER REFERENCES (Including Author, Title, Date, Pertinent Pages, etc.)</b>							
	AW						
	AX						
	AY						
	AZ					<input type="checkbox"/> Additional References sheet(s) attached	
Examiner					Date Considered		
*Examiner: Initial if reference is considered, whether or not citation is in conformance with MPEP 609; Draw line through citation if not in conformance and not considered. Include copy of this form with next communication to applicant.							

OSMM&N File No. 251067US0CONT

Dept.: -C-

By: NFO/VKS/sfb

Serial No. NEW APPLICATION

In the matter of the Application of: Atsushi SUZUKI, et al.

For: PREVENTIVE OR REMEDY FOR HYPERTENSION

**Due Date: 03/29/04**

The following has been received in the U.S. Patent Office on the date stamped hereon:

- 27 pp. Specification 3 Claims/Drawings 0 Sheets and 2 Pages Application Data Sheet
- Copy of Combined Declaration, Petition & Power of Attorney 3 Pages (executed)
- Utility Patent Application Transmittal
- Request for Priority
- Check for \$770.00
- Dep. Acct. Order Form
- Fee Transmittal Form
- Preliminary Amendment
- Information Disclosure Statement
- PTO-1449
- White Advance Serial Number Card



A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized loop.



Form PTO 1449 (Modified)		U.S. DEPARTMENT OF COMMERCE PATENT AND TRADEMARK OFFICE		ATTY DOCKET NO. 251067US0CONT		SERIAL NO. NEW APPLICATION	
LIST OF REFERENCES CITED BY APPLICANT				APPLICANT Atsushi SUZUKI, et al.			
				FILING DATE HEREWITH		GROUP	
<b>U.S. PATENT DOCUMENTS</b>							
EXAMINER INITIAL		DOCUMENT NUMBER	DATE	NAME	CLASS	SUB CLASS	FILING DATE IF APPROPRIATE
	AA	US-2002/0192317					
	AB						
	AC						
	AD						
	AE						
	AF						
	AG						
	AH						
	AI						
	AJ						
	AK						
	AL						
	AM						
	AN						
<b>FOREIGN PATENT DOCUMENTS</b>							
		DOCUMENT NUMBER	DATE	CCOUNTRY	TRANSLATION YES                  NO		
	AO	0 387 000	09/12/90	Europe			
	AP	2 734 478	11/29/96	France			
	AQ	1 090 635	04/11/01	Europe			
	AR	WO 91/01724	02/21/91	Wipo			
	AS	2 302 745	10/01/76	France			
	AT	WO 92/16544	10/01/92	Wipo			
	AU	WO 98/01143	01/15/98	Wipo			
	AV	WO 01/12178	02/22/01	Wipo			
<b>OTHER REFERENCES (Including Author, Title, Date, Pertinent Pages, etc.)</b>							
	AW	Derwent Publications, AN 1992-337587, XP-002219275, JP 04-243822, August 31, 1992					
	AX	J-T. CHENG, et al., Chemical Abstracts, 1 page, XP-002219274, "ANTIHYPERTENSIVE ACTIVITY OF PHENOLICS FROM THE FLOWER OF LONICERA JAPONICA", 1994					
	AY	M. CARMIGNANI, et al., Journal of Medicinal Chemistry, vol. 44, no. 18, pages 2950-2958, XP-002219273, "NOVEL HYPOTENSIVE AGENTS FROM VERBESINA CARACASANA. 8. SYNTHESIS AND PHARAMACOLOGY OF (3,4-DIMETHOXYCINNAMOYL_ -N <sup>1</sup> -AGMATINE AND SYNTHETIC ANALOGUES", 2001					
	AZ	H.P. PHAM, et al., Prostaglandins in Clinical Research, pages 609-613, XP-008007450, "COMPARATIVE EFFECTS ON TXA2 BIOSYNTHESIS OF COMPOUNDS EXTRACTED FROM THREE VERBENACEAE USED IN AFRICAN FOLK MEDICINE", 1989				<input type="checkbox"/> Additional References sheet(s) attached	
Examiner					Date Considered		
*Examiner: Initial if reference is considered, whether or not citation is in conformance with MPEP 609; Draw line through citation if not in conformance and not considered. Include copy of this form with next communication to applicant.							

Form PTO 1449 (Modified)		U.S. DEPARTMENT OF COMMERCE PATENT AND TRADEMARK OFFICE		ATTY DOCKET NO. 251067US0CONT		SERIAL NO. NEW APPLICATION	
LIST OF REFERENCES CITED BY APPLICANT				APPLICANT Atsushi SUZUKI, et al.			
				FILING DATE HEREWITH		GROUP	
<b>U.S. PATENT DOCUMENTS</b>							
EXAMINER INITIAL		DOCUMENT NUMBER	DATE	NAME	CLASS	SUB CLASS	FILING DATE IF APPROPRIATE
	AA						
	AB						
	AC						
	AD						
	AE						
	AF						
	AG						
	AH						
	AI						
	AJ						
	AK						
	AL						
	AM						
	AN						
<b>FOREIGN PATENT DOCUMENTS</b>							
		DOCUMENT NUMBER	DATE	COUNTRY	TRANSLATION YES NO		
	AO	1 186 294	03/13/02	Europe			
	AP	1 172 112	01/16/02	Europe			
	AQ	1 186 297	03/13/02	Europe			
	AR	WO 02/24212	03/28/02	Wipo			
	AS						
	AT						
	AU						
	AV						
<b>OTHER REFERENCES (Including Author, Title, Date, Pertinent Pages, etc.)</b>							
	AW	K. HISHIKAWA, et al., Japanese Journal of Pharmacology, vol. 85, no. 1, page 11P, XP-008007448, "POSSIBLE ROLE OF A SPECIFIC NF-K-B INHIBITOR AS ANTI-ATHEROSCLEROSIS AGENT", March 21-23, 2001					
	AX	A. SUZUKI, et al., Hypertension Research, vol. 25, no. 1, pages 99-107, XP-008007437, "GREEN COFFEE BEAN EXTRACT AND ITS METABOLITES HAVE A HYPOTENSIVE EFFECT IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS", 2002					
	AY						
	AZ					<input type="checkbox"/> Additional References sheet(s) attached	
Examiner					Date Considered		
*Examiner: Initial if reference is considered, whether or not citation is in conformance with MPEP 609; Draw line through citation if not in conformance and not considered. Include copy of this form with next communication to applicant.							



OSMM&N File No. 223922US0  
Serial No. 10/161,739

Dept.: PP

By: NFO/shb

In the matter of the Application of: Atsushi SUZUKI, et al.  
For: PREVENTIVE OR REMEDY FOR HYPERTENSION

Due Date: 01/02/03

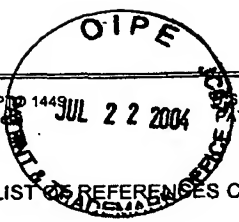
The following has been received in the U.S. Patent Office on the date stamped hereon:

- ☒ Dep. Acct. Order Form
- ☒ Information Disclosure Statement
- ☒ Cited References (18)
- ☒ Search Report EUROPEAN
- ☐ PTO-1449

COPY



12/26/02



Form PTO 1449 (Modified)		U.S. DEPARTMENT OF COMMERCE PATENT AND TRADEMARK OFFICE		ATTY DOCKET NO. 223922US0		SERIAL NO. 10/161,739	
LIST OF REFERENCES CITED BY APPLICANT				APPLICANT Atsushi SUZUKI, et al.			
FILING DATE June 5, 2002				GROUP 1614			

U.S. PATENT DOCUMENTS							
EXAMINER INITIAL		DOCUMENT NUMBER	DATE	NAME	CLASS	SUB CLASS	FILING DATE IF APPROPRIATE
	AA						
	AB						
	AC						
	AD						
	AE						
	AF						
	AG						
	AH						

FOREIGN PATENT DOCUMENTS						
		DOCUMENT NUMBER	DATE	COUNTRY	TRANSLATION	
					YES	NO
	AI	0 387 000	09/12/90	EUROPE		
	AJ	2 734 478	11/29/96	FRANCE		X
	AK	1 090 635	04/11/2001	EUROPE		
	AL	WO 91/01724	02/21/91	WIPO		
	AM	2 302 745	10/01/76	FRANCE		X
	AN	WO 92/16544	10/01/92	WIPO (with English Abstract)		X
	AO	WO 98/01143	01/15/98	WIPO (with English Abstract)		X
	AP	WO 01/12178	02/22/2001	WIPO		
	AQ	1 186 294	03/13/2002	EUROPE		
	AR	1 172 112	01/16/2002	EUROPE		
	AS	1 186 297	03/13/2002	EUROPE		
	AT	WO 02/24212	03/28/2002	WIPO		

OTHER REFERENCES (Including Author, Title, Date, Pertinent Pages, etc.)	
	AU Derwent Publications, AN 1992-337587, XP-002219275, JP 04-243822, August 31, 1992
	AV J-T. CHENG, et al., Chemical Abstracts, 1 page, XP-002219274, "ANTIHYPERTENSIVE ACTIVITY OF PHENOLICS FROM THE FLOWER OF LONICERA JAPONICA", 1994
	AW M. CARMIGNANI, et al., Journal of Medicinal Chemistry, vol. 44, no. 18, pages 2950-2958, XP-002219273, "NOVEL HYPOTENSIVE AGENTS FROM VERBESINA CARACASANA. 8. SYNTHESIS AND PHARMACOLOGY OF (3,4-DIMETHOXYCINAMOYL)-N'-AGMATINE AND SYNTHETIC ANALOGUES", 2001
	AX H, P. PHAM, et al., Prostaglandins in Clinical Research, pages 609-613, XP-008007450, "COMPARATIVE EFFECTS ON TXA2 BIOSYNTHESIS OF COMPOUNDS EXTRACTED FROM THREE VERBENACEAE USED IN AFRICAN FOLK MEDICINE", 1989
	AY K. HISHIKAWA, et al., Japanese Journal of Pharmacology, vol. 85, no. 1, page 11P, XP-008007448, "POSSIBLE ROLE OF A SPECIFIC NF- K- B INHIBITOR AS ANTI-ATHEROSCLEROSIS AGENT", March 21-23, 2001
	AZ A. SUZUKI, et al., Hypertension Research, vol. 25, no. 1, pages 99-107, XP-008007437, "GREEN COFFEE BEAN EXTRACT AND ITS METABOLITES HAVE A HYPOTENSIVE EFFECT IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS", 2002

Examiner	Date Considered
----------	-----------------

\*Examiner: Initial if reference is considered, whether or not citation is in conformance with MPEP 609; Draw line through citation if not in conformance and not considered. Include copy of this form with next communication to applicant.





P.B.5818 - Patentlaan 2  
2280 HV Rijswijk (ZH)  
☎ +31 70 340 2040  
TX 31651 epo nl  
FAX +31 70 340 3016

FILED BY IDS  
12-26-02 ✓

Europäisches  
Patentamt

Zweigstelle  
in Den Haag  
Recherchen-  
abteilung

European  
Patent Office

Branch at  
The Hague  
Search  
division

Office européen  
des brevets

Département à  
La Haye  
Division de la  
recherche

VOSSIUS & PARTNER  
Siebertstrasse 4  
81675 München  
ALLEMAGNE

EINGEGANGEN  
Vossius & Partner

26. Nov. 2002

Frist  
beacht.

COPY

Datum/Date

26.11.02

Zeichen/Ref./Réf.

G1968 EP

Anmeldung Nr./Application No./Demande n°/Patent Nr./Patent No./Brevet n°.

02012300.6-1216-

Anmelder/Applicant/Demandeur/Patentinhaber/Proprietor/Titulaire

Kao Corporation

## COMMUNICATION

The European Patent Office herewith transmits as an enclosure the European search report for the above-mentioned European patent application.

If applicable, copies of the documents cited in the European search report are attached.

☒ Additional set(s) of copies of the documents cited in the European search report is (are) enclosed as well.

The following specifications given by the applicant have been approved by the Search Division:

☒ abstract

☐ title

☐ The abstract was modified by the Search Division and the definitive text is attached to this communication.

The following figure will be published together with the abstract:

NONE

## REFUND OF THE SEARCH FEE

If applicable under Article 10 Rules relating to fees, a separate communication from the Receiving Section on the refund of the search fee will be sent later.





DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.Cl.7)
X	DATABASE WPI Week 199241 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1992-337587 XP002219275 KUBO MASAYOSHI ET AL.: "Calcium antagonist" & JP 04 243822 A (TSUMURA & CO), 31 August 1992 (1992-08-31) * abstract *	1,2	A61K31/12 A61K31/216 A61P9/12
X	EP 0 387 000 A (SUNTORY LTD) 12 September 1990 (1990-09-12) * page 2, line 1 - line 3 * * page 2, line 36 - line 40 * * page 3, line 41 - line 50 * * table 1 * * page 6, line 47 - line 50 * * claims 1,6 *	1,2	
X	DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; CHENG, JUEI-TANG ET AL: "Antihypertensive activity of phenolics from the flower of Lonicera japonica" retrieved from STN Database accession no. 122:281796 XP002219274 * abstract * & CHIN. PHARM. J. (TAIPEI) (1994), 46(6), 575-82 ,	1,3	TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int.Cl.7) A61K
The present search report has been drawn up for all claims			
Place of search THE HAGUE		Date of completion of the search 4 November 2002	Examiner Cielen, E
CATEGORY OF CITED DOCUMENTS			
X : particularly relevant if taken alone Y : particularly relevant if combined with another document of the same category A : technological background O : non-written disclosure P : intermediate document		T : theory or principle underlying the invention E : earlier patent document, but published on, or after the filing date D : document cited in the application L : document cited for other reasons & : member of the same patent family, corresponding document	

1  
EPO FORM 1503 03.82 (P04C01)



DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.Cl.7)
X	FR 2 734 478 A (BERKEM SA) 29 November 1996 (1996-11-29) * page 1, line 5 - line 9 * * page 1, line 32 - line 35 * * page 3, line 25 - line 33 * * page 5, line 11 - line 17 * * claims 1,5 * ---	1,3	<div>TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int.Cl.7)</div>
X	EP 1 090 635 A (KAO CORP) 11 April 2001 (2001-04-11) * page 2, line 56 - page 3, line 15 * * page 3, line 31 - page 4, line 4 * * example 3 * * claims 2,8 * ---	1	
X	WO 91 01724 A (SEARLE & CO) 21 February 1991 (1991-02-21) * abstract * * page 1, line 11 - line 16 * * claims 1,2,33,113,155-157,187,190 * ---	1	
X	FR 2 302 745 A (SCREEN) 1 October 1976 (1976-10-01) * page 2, line 23 - line 36 * * page 3, line 6 - line 13 * * page 12, line 24 - line 35 * * claims 2,10,12 * ---	1	
X	WO 92 16544 A (DIOR CHRISTIAN PARFUMS) 1 October 1992 (1992-10-01) * page 1, line 5 - line 7 * * page 2, line 24 - page 3, line 5 * * page 5, line 20 - line 26 * * page 20, line 31 - line 35 * * claims 1,21 * ---	1	
The present search report has been drawn up for all claims			
Place of search <b>THE HAGUE</b>		Date of completion of the search <b>4 November 2002</b>	Examiner <b>Cielen, E</b>
<div>CATEGORY OF CITED DOCUMENTS</div> <div>X : particularly relevant if taken alone Y : particularly relevant if combined with another document of the same category A : technological background O : non-written disclosure P : intermediate document</div> <div>T : theory or principle underlying the invention E : earlier patent document, but published on, or after the filing date D : document cited in the application L : document cited for other reasons ----- &amp; : member of the same patent family, corresponding document</div>			

1  
EPO FORM 1503 03/82 (P04C01)



DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.Cl.7)
X	CARMIGNANI, MARCO ET AL: "Novel hypotensive agents from Verbesina caracasana. 8. Synthesis and pharmacology of (3,4-dimethoxycinnamoyl)-N1-agmatine and synthetic analogues" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY (2001), 44(18), 2950-2958 , XP002219273 * abstract * * page 2950, column 2, paragraph 2 - page 2951, column 1, paragraph 1 * * figure SCHEME1 * * page 2952, column 1, paragraph 2 - column 2, paragraph 1 * * page 2954, column 2, paragraph 3 * * page 2955, column 2, paragraph 2 * ---	1	
X	PHAM HUU CHANH ET AL: "Comparative effects on TXA2 biosynthesis of compounds extracted from thre Verbenaceae used in African folk medicine" PROG. CLIN. BIOL. RES. (1989), 301(PROSTAGLANDINS CLIN. RES.: CARDIOVASC SYST.), 609-13 , XP008007450 * the whole document * ---	1	TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int.Cl.7)
X	WO 98 01143 A (AAR PHARMA ;RUEPP MICHEL O (DE)) 15 January 1998 (1998-01-15) * page 1, line 1 - line 4 * * page 2, line 1 - line 7 * * page 9, line 26 - page 11, line 17 * * claims 1,3 * --- -/--	1,3	
The present search report has been drawn up for all claims			
Place of search THE HAGUE		Date of completion of the search 4 November 2002	Examiner Cielen, E
CATEGORY OF CITED DOCUMENTS			
X : particularly relevant if taken alone Y : particularly relevant if combined with another document of the same category A : technological background O : non-written disclosure P : intermediate document		T : theory or principle underlying the invention E : earlier patent document, but published on, or after the filing date D : document cited in the application L : document cited for other reasons ----- & : member of the same patent family, corresponding document	

1  
EPO FORM 1503 03.82 (P4/C01)



DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT									
Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.C1.7)						
X	WO 01 12178 A (KIM E HUN ;KIM JAE WHUNE (KR); KIM JU SUNG (KR); KIM MYONG JO (KR)) 22 February 2001 (2001-02-22) * page 1, line 6 - line 25 * * page 5, line 3 - line 9 * ---	1,3							
A	HISHIKAWA KEIICHI ET AL: "Possible role of a specific NF-kappaB inhibitor as anti-atherosclerosis agent." JAPANESE JOURNAL OF PHARMACOLOGY, vol. 85, no. Supplement 1, 2001, page 11P XP008007448 74th Annual Meeting of the Japanese Pharmacological Society;Yokohama, Japan; March 21-23, 2001 ISSN: 0021-5198 * the whole document * ---	1,2							
P,X	SUZUKI A. ET AL: "Green coffee bean extract and its metabolites have a hypotensive effect in spontaneously hypertensive rats." HYPERTENSION RESEARCH, (2002) 25/1 (99-107). XP008007437 * abstract * * figure 2 * * page 103, column 1, paragraph 2 - column 2, paragraph 2 * * page 104, column 2, paragraph 2 * * page 105, column 1, paragraph 2 - column 2, paragraph 3 * --- -/--	1,3							
The present search report has been drawn up for all claims			TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int.C1.7)						
Place of search THE HAGUE		Date of completion of the search 4 November 2002	Examiner Cielen, E						
<table border="0"><tr><td>CATEGORY OF CITED DOCUMENTS</td><td>T : theory or principle underlying the invention E : earlier patent document, but published on, or after the filing date D : document cited in the application L : document cited for other reasons ----- &amp; : member of the same patent family, corresponding document</td></tr><tr><td>X : particularly relevant if taken alone Y : particularly relevant if combined with another document of the same category A : technological background O : non-written disclosure P : intermediate document</td><td></td><td></td><td></td></tr></table>				CATEGORY OF CITED DOCUMENTS	T : theory or principle underlying the invention E : earlier patent document, but published on, or after the filing date D : document cited in the application L : document cited for other reasons ----- & : member of the same patent family, corresponding document	X : particularly relevant if taken alone Y : particularly relevant if combined with another document of the same category A : technological background O : non-written disclosure P : intermediate document			
CATEGORY OF CITED DOCUMENTS	T : theory or principle underlying the invention E : earlier patent document, but published on, or after the filing date D : document cited in the application L : document cited for other reasons ----- & : member of the same patent family, corresponding document								
X : particularly relevant if taken alone Y : particularly relevant if combined with another document of the same category A : technological background O : non-written disclosure P : intermediate document									



DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.Cl.7)
P,X	EP 1 186 294 A (KAO CORP) 13 March 2002 (2002-03-13) * page 2, line 36 - page 3, line 41 * * page 4, line 24 - line 35 * * table 1 * * example 4 * * claims 1-4,11,14 * ---	1,3	
P,X	EP 1 172 112 A (KAO CORP) 16 January 2002 (2002-01-16) * page 1, line 1 - line 5 * * page 2, line 52 - page 3, line 10 * * claims 1,3,4 * ---	1,3	
P,X	EP 1 186 297 A (KAO CORP) 13 March 2002 (2002-03-13) * page 2, line 38 - line 46 * * page 3, line 1 - line 29 * * claim 1 * ---	1,3	
P,X	WO 02 24212 A (KIM SOO KIL ; SONG YANG HUN (KR); LEE SANG NAM (KR); ULTIMATE LIFE) 28 March 2002 (2002-03-28) * page 3, line 6 - line 11 * * page 4, line 2 - line 9 * * page 5, line 5 - line 7 * * page 5, line 25 - page 6, line 1 * * page 10, line 17 - page 11, line 2 * * claims 2,3 * -----	1,3	TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int.Cl.7)
The present search report has been drawn up for all claims			
Place of search THE HAGUE		Date of completion of the search 4 November 2002	Examiner Cielen, E
CATEGORY OF CITED DOCUMENTS X : particularly relevant if taken alone Y : particularly relevant if combined with another document of the same category A : technological background O : non-written disclosure P : intermediate document		T : theory or principle underlying the invention E : earlier patent document, but published on, or after the filing date D : document cited in the application L : document cited for other reasons ----- & : member of the same patent family, corresponding document	

1  
EPO FORM 1503 03.82 (P04C01)

**ANNEX TO THE EUROPEAN SEARCH REPORT  
ON EUROPEAN PATENT APPLICATION NO.**

EP 02 01 2300

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned European search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on  
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

04-11-2002

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
JP 4243822	A	31-08-1992	NONE		
EP 0387000	A	12-09-1990	JP	3027319 A	05-02-1991
			JP	3070611 B2	31-07-2000
			AT	122884 T	15-06-1995
			DE	69019565 D1	29-06-1995
			DE	69019565 T2	28-09-1995
			EP	0387000 A2	12-09-1990
			ES	2072387 T3	16-07-1995
			US	5336496 A	09-08-1994
FR 2734478	A	29-11-1996	FR	2734478 A1	29-11-1996
EP 1090635	A	11-04-2001	JP	2001354556 A	25-12-2001
			EP	1090635 A2	11-04-2001
			US	6310100 B1	30-10-2001
WO 9101724	A	21-02-1991	EP	0484437 A1	13-05-1992
			JP	4506967 T	03-12-1992
			WO	9101724 A1	21-02-1991
FR 2302745	A	01-10-1976	FR	2302745 A1	01-10-1976
			DE	2609533 A1	16-09-1976
WO 9216544	A	01-10-1992	CA	2102689 A1	22-09-1992
			WO	9216544 A1	01-10-1992
			AU	670742 B2	01-08-1996
			DE	69110136 D1	06-07-1995
			DE	69110136 T2	11-01-1996
			EP	0576420 A1	05-01-1994
			JP	3147900 B2	19-03-2001
			JP	6508601 T	29-09-1994
			US	5719129 A	17-02-1998
WO 9801143	A	15-01-1998	DE	19627376 A1	08-01-1998
			AU	3541697 A	02-02-1998
			WO	9801143 A1	15-01-1998
			EP	0912189 A1	06-05-1999
			JP	2001504443 T	03-04-2001
			US	2002012708 A1	31-01-2002
WO 0112178	A	22-02-2001	AU	6480300 A	13-03-2001
			WO	0112178 A1	22-02-2001
EP 1186294	A	13-03-2002	JP	2002053464 A	19-02-2002
			EP	1186294 A2	13-03-2002

EPO FORM P0459

For more details about this annex : see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/82

**ANNEX TO THE EUROPEAN SEARCH REPORT  
ON EUROPEAN PATENT APPLICATION NO.**

EP 02 01 2300

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned European search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on  
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

04-11-2002

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP 1186294	A		US	2002051810 A1	02-05-2002
EP 1172112	A	16-01-2002	EP	1172112 A2	16-01-2002
			JP	2002087977 A	27-03-2002
			US	2002022062 A1	21-02-2002
EP 1186297	A	13-03-2002	JP	2002080356 A	19-03-2002
			JP	2002080381 A	19-03-2002
			JP	2002080357 A	19-03-2002
			JP	2002080355 A	19-03-2002
			EP	1186297 A2	13-03-2002
			US	2002054923 A1	09-05-2002
			JP	2002154977 A	28-05-2002
WO 0224212	A	28-03-2002	WO	0224212 A1	28-03-2002
			AU	7455000 A	02-04-2002



FILED BY IDS

cited in the European Search  
Report of EP 0 201 2300.6  
Your Ref.: 450653 EP (P01-499 EP)

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

(11) N° de publication : **2 734 478**

(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

(21) N° d'enregistrement national : **95 06098**

(51) Int Cl : A 61 K 7/42, 31/35(A 61 K 31/35, 31:215)

(12)

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 23.05.95.

(30) Priorité :

(43) Date de la mise à disposition du public de la  
demande : 29.11.96 Bulletin 96/48.

(56) Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du  
présent fascicule.*

(60) Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

(71) Demandeur(s) : BERKEM SOCIETE ANONYME —  
FR.

(72) Inventeur(s) : NKILIZA JEAN et FAHY LUCIEN.

(73) Titulaire(s) :

(74) Mandataire : PEUSCET.

COPY

(54) COMPOSITION COSMETIQUE OU PHARMACEUTIQUE UTILISABLE PAR VOIE TOPIQUE OU ORALE AYANT  
DES PROPRIETES ANTIRADICALAIRES ET UN POUVOIR FILTRANT VIS-A-VIS DES UV.

(57) Composition cosmétique ou pharmaceutique utilisable  
par voie topique ou par voie orale contenant, dans un sup-  
port approprié, un agent protecteur ayant un pouvoir filtrant  
vis-à-vis des rayons ultraviolets et des propriétés antiradi-  
calaires, caractérisée par le fait que l'agent protecteur com-  
porte:

1) au moins un monomère et/ou oligomère de phénol de  
type catéchique d'origine végétale, par exemple extrait de  
thé vert, de racines de potentille, de pépins de raisin ou  
d'écorce de pin, et

2) au moins un acide hydroxycinnamique d'origine végé-  
tale, par exemple extrait de café vert.

L'agent protecteur a, à la fois, des propriétés antiradi-  
calaires et un pouvoir filtrant vis-à-vis des rayons ultraviolets.

FR 2 734 478 - A1



COMPOSITION COSMÉTIQUE OU PHARMACEUTIQUE  
UTILISABLE PAR VOIE TOPIQUE OU ORALE AYANT DES  
PROPRIÉTÉS ANTIRADICALAIRES ET UN POUVOIR FILTRANT  
VIS-A-VIS DES UV.

5 La présente invention concerne une composition cosmétique ou pharmaceutique utilisable par voie topique ou par voie orale ayant des propriétés antiradicalaires, en particulier contre les radicaux libres oxygénés, et un pouvoir filtrant vis-à-vis des rayons ultraviolets (UV).

10 Il est connu que les radicaux libres oxygénés, intervenant dans de nombreux processus vitaux de l'organisme vivant, peuvent avoir une origine endogène ou une origine exogène. L'origine endogène est essentiellement enzymatique : en effet, des réactions enzymatiques radicalaires interviennent dans de nombreux processus  
15 normaux comme la respiration cellulaire, la synthèse de prostaglandines et la phagocytose. Ces espèces radicalaires à oxygène actif peuvent aussi être initiées par des radiations ionisantes comme la composante ultraviolette de la lumière solaire de notre environnement.

20 Bien que les valeurs normales de ces entités radicalaires dans tout être vivant soient inconnues pour le moment, on sait que leur modification s'accompagne toujours de changements des fonctions vitales dans lesquelles lesdites entités sont impliquées. Ces changements fonctionnels peuvent se manifester sous diverses formes, notamment :

- 25 - la destruction oxydative des macromolécules, comme le collagène ou l'élastine ;  
- l'accumulation des intermédiaires métaboliquement inertes issus, par exemple, de la polymérisation oxydative des lipides insaturés ;  
- l'altération des structures membranaires de certains éléments de la  
30 cellule comme les mitochondries et les lysosomes, suite à la peroxydation des lipides.

Ces dysfonctionnements des processus oxydatifs normaux sont mis en cause dans certaines maladies comme le cancer, l'athérosclérose, l'hypertension, le vieillissement cellulaire qui provoque, en particulier,  
35 la formation de rides.

La nature a prévu un système endogène de défense contre les agressions radicalaires sous contrôle purement enzymatique, notamment grâce à la superoxyde dismutase (SOD) et la glutathione peroxydase. Cependant, dans certains cas, ces moyens de défense  
5 peuvent se trouver dépassés et exiger un renfort externe pouvant agir soit comme stimulateur du système endogène, soit comme un antioxydant piégeant les radicaux libres.

La lumière solaire, facteur environnemental auquel tout le monde est exposé, est responsable de certains dommages corporels tels  
10 que les brûlures, les inflammations et les cancer de la peau, dont une cause est la présence de radicaux libres oxygénés induite par la composante ultraviolette de la lumière solaire. Le rayonnement le plus nocif correspond à la région comprise entre 280 et 400 nm, que les cosmétologues désignent comme zone des UVB et UVA. En général,  
15 les préparations cosmétiques permettant de se protéger contre ces rayons UV contiennent, à l'heure actuelle, comme agents protecteurs, essentiellement des produits organiques de synthèse souvent associés à des produits minéraux comme l'oxyde de zinc ou l'oxyde de titane micronisé ; la protection offerte est uniquement due à un effet filtre par  
20 absorption du rayonnement UV. Il s'agit, de ce fait, d'un effet immédiat et le produit doit impérativement être appliqué immédiatement avant l'agression. De plus ces produits synthétiques possèdent généralement des spectres d'absorption très étroits avec des maxima situés soit dans la région des UVB, soit dans celle des UVA.

Il serait donc souhaitable de pouvoir utiliser un agent  
25 protecteur permettant de se protéger contre les agressions UV par effet combiné de propriétés antiradicalaires et de propriétés filtrantes, ayant un spectre d'absorption très large couvrant la zone comprise entre 270 et 360 nm et comportant deux maxima situés l'un, dans la région des  
30 UVB autour de 290 nm et l'autre, dans la région des UVA autour de 330 nm. Par l'effet filtre, l'agent protecteur offrirait ainsi une bonne protection immédiate contre les UVA et UVB à la fois. Ses propriétés antiradicalaires lui confèreraient, en outre, un effet préventif et curatif obtenu soit en piégeant les radicaux libres soit en stimulant les défenses  
35 endogènes de l'organisme. Un tel produit pourrait donc être utilisé avant, pendant, ou après l'exposition aux rayons UV.

Selon la présente invention, on a trouvé que l'on peut obtenir le résultat souhaité en utilisant un agent protecteur contenant à la fois :

- 1) des monomères et/ou oligomères phénoliques de type catéchique provenant d'extraits végétaux,
- 2) des acides hydroxycinnamiques provenant d'extraits végétaux.

Cet agent protecteur peut être utilisé aussi bien à titre préventif que curatif. Il a l'avantage d'être entièrement d'origine végétale et d'être soluble dans l'eau.

De façon connue, les monomères ou oligomères phénoliques de type catéchique présentent une bonne absorption des rayons ultraviolets avec des maxima dans la zone de 280 nm, correspondant aux UVB, mais surtout piègent de façon efficace les radicaux libres oxygénés ; cette activité antiradicalaire résulte soit d'une stimulation des défenses endogènes cellulaires, soit d'une inhibition de la peroxydation lipidique. Les acides hydroxycinnamiques offrent une bonne absorption des UV avec des maxima dans la zone de 310 à 330 nm correspondant aux UVA mais des propriétés antiradicalaires faibles, voire nulles. Selon la présente invention, on a trouvé que la combinaison des monomères et/ou oligomères phénoliques et des acides hydroxycinnamiques avait un effet de synergie en ce qui concerne les propriétés antiradicalaires, comme le montrent les exemples donnés ci-après.

La présente invention a donc pour objet une composition cosmétique ou pharmaceutique utilisable par voie topique ou orale contenant dans un support approprié un agent protecteur ayant des propriétés antiradicalaires et un pouvoir filtrant vis-à-vis des rayons ultraviolets, caractérisée par le fait que l'agent protecteur comporte :

- 1) au moins un monomère et/ou un oligomère de phénol de type catéchique d'origine végétale, et
- 2) au moins un acide hydroxycinnamique d'origine végétale.

Les monomères et/ou les oligomères de phénol de type catéchique constituent une fraction des tanins catéchiques contenus dans différentes sources végétales parmi lesquelles on peut citer le thé vert,

différentes sources végétales parmi lesquelles on peut citer le thé vert, les racines de potentille, les pépins de raisin et l'écorce de pin et peuvent donc être extraits de ces plantes.

On peut préparer à partir de ces plantes des extraits  
5 contenant lesdits monomères et/ou lesdits oligomères de phénol de type catéchique par des procédés décrits dans les brevets publiés suivants : FR-A-1 427 100, FR-A-2 092 743, FR-A-2 372 823, FR-A-2 643 073, US-A-4 698 360 et EP-A-348 741. On utilise, de préférence, le  
10 procédé décrit dans la demande de brevet français n° 94 08615 déposée le 12 Juillet 1994 par la demanderesse. Ce procédé est caractérisé par les étapes suivantes :

- a) on extrait le végétal à l'eau chaude,
- b) on précipite les tanins de la phase aqueuse obtenue par  
15 addition d'un sel minéral, en particulier le chlorure de sodium et on filtre les tanins,
- c) on traite le filtrat salé obtenu par l'acétate d'éthyle,
- d) on concentre la phase organique obtenue sous pression  
réduite,
- e) on ajoute de l'eau distillée,
- 20 f) on élimine l'acétate d'éthyle par évaporation sous pression réduite à une température ne dépassant pas, de préférence, 50°C,
- g) on lave au moins une fois la phase aqueuse obtenue à l'aide d'un solvant polaire chloré, en particulier le chloroforme ou le  
25 chlorure de méthylène,
- h) on élimine le solvant polaire chloré résiduel de la phase aqueuse lavée, en particulier par évaporation sous pression réduite à une température ne dépassant pas 50°C environ, et
- i) on sèche le concentré aqueux obtenu pour obtenir un  
30 extrait.

Dans le cas où l'on extrait du thé vert par le procédé décrit ci-dessus, on peut obtenir un extrait de pureté relativement élevée constitué pour environ 75 % de monomères de phénols de type catéchique dans les proportions pondérales indiquées dans le tableau ci-  
35 après :

(+)-catéchine	3 %
(-)-épicatéchine	7 %
(-)-épicatéchine-3-O-galloylée	7 %
(+)-gallocatéchine	13 %
(-)-épigallocatéchine	17 %
(+)-gallocatéchine-3-O-galloylée	27 %

Le reste est essentiellement constitué d'oligomères des composés ci-dessus.

5 Dans le cas où on extrait par le procédé décrit ci-dessus des pépins de raisin ou de l'écorce de pin, l'extrait contient en majeure partie des oligomères et une plus faible proportion de monomères, cette faible proportion pouvant être contrôlée.

Selon l'invention, on utilise de préférence les extraits de thé vert, d'écorce de pin ou de pépin de raisin obtenus par le procédé décrit dans la demande de brevet français 94 08615.

10 Parmi les acides hydroxycinnamiques, on peut citer l'acide p-coumarique, l'acide férulique, l'acide caféique, l'acide sinapique ainsi que les acides chlorogéniques tels que l'acide 3-caféylquinique, l'acide 4-caféylquinique, l'acide 5-caféylquinique, l'acide 3,4-caféylquinique, l'acide 3,5-dicaféylquinique, l'acide 4,5-dicaféylquinique, l'acide 4-feruloylquinique et l'acide 5-feruloylquinique.

20 Ces différents acides hydroxycinnamiques, plus particulièrement des mélanges de ces acides, peuvent être obtenus à un degré de pureté plus ou moins élevé par extraction de différents végétaux, tels que certaines plantes dicotylédones. Selon l'invention, on utilise, de préférence, un extrait de café vert, plus particulièrement celui contenant plus de 90 % en poids d'acides chlorogéniques, généralement environ 95 %, dont la préparation est décrite dans la demande de brevet français déposée le même jour par la demanderesse sous le titre "Préparation d'un extrait végétal ayant des propriétés d'écran total vis-a-vis des UV, extrait végétal obtenu, son utilisation et composition cosmétique ou pharmaceutique contenant ledit extrait".

25 Selon ce procédé, on traite des grains de café vert secs broyés à l'aide d'un solvant des graisses et de la caféine, par exemple le chloroforme

30

ou le chlorure de méthylène ; on extrait le produit broyé par exemple par un solvant polaire aqueux des acides chlorogéniques, en particulier du méthanol aqueux, plus particulièrement dans une proportion en volume de 7/3 ; on évapore le solvant polaire sous pression réduite à  
5 une température n'excédant pas 50°C ; on épuise la phase aqueuse restante par un solvant des acides chlorogéniques non-miscible à l'eau, en particulier l'acétate d'éthyle ; on concentre sous pression réduite la phase organique obtenue à une température n'excédant pas 50°C ; on reprend le résidu par l'eau distillée et on le sèche pour obtenir l'extrait  
10 sec. Selon l'invention, on utilise de préférence l'extrait de café vert obtenu par le procédé décrit ci-dessus comme source d'acides hydroxycinnamiques.

Selon la présente invention, le(s) acide(s) hydroxycinnamique(s) et le(s) monomère(s) et/ou oligomère(s) de  
15 phénol de type catéchique sont utilisés sous forme d'extrait brut, sous forme de mélange d'extraits bruts d'origines différentes ou sous forme purifiée obtenue à partir d'un ou plusieurs extrait(s) brut(s). Ces produits étant hydrosolubles, ils peuvent être utilisés sous forme de solution aqueuse.

20 Pour obtenir un mélange homogène des extraits ou produits utilisés, on dissout, de préférence, tous les constituants dans l'eau et on sèche ensuite le mélange, par exemple par nébulisation ou lyophilisation. Cependant, on peut utiliser tout procédé de mélange connu.

25 Dans le mélange constituant l'agent protecteur, la proportion pondérale du(des) acide(s) hydroxycinnamiques(s) par rapport au(x) monomère(s) et/ou oligomère(s) de phénol de type catéchique est, de préférence, comprise entre 1/9 et 4, mais elle pourrait être supérieure ou inférieure.

30 Dans les compositions cosmétiques ou pharmaceutiques, l'agent protecteur selon l'invention est présent en quantité suffisante pour qu'il y ait un effet de filtre et un effet antiradicalaire. Les quantités utilisées sont généralement comprises entre 0,01 et 50 % en poids par rapport au poids total de la composition.

35 L'exemple donné ci-après, à titre purement illustratif et non limitatif, permettra de mieux comprendre l'invention.

**EXEMPLE****A) Préparation des extraits***1) Préparation d'un extrait de café vert*

1 kg de café vert commercial sec est broyé. La poudre  
5 obtenue est traitée par 5 litres de chloroforme sous agitation pendant 1  
heure. L'opération est répétée une fois supplémentaire de façon à  
obtenir un produit délipidé et décaféiné. Le produit délipidé a été  
soumis à une extraction à l'aide de 5 litres d'un mélange méthanol/eau  
dans une proportion en volume de 7/3. La phase organique obtenue est  
10 ensuite concentrée sous une pression réduite de 10 mbars à une  
température ne dépassant pas 50°C jusqu'à élimination totale du  
méthanol. Il reste environ 1 litre de phase aqueuse que l'on extrait avec  
une quantité équivalente d'acétate d'éthyle (1 litre). La phase organique  
obtenue est évaporée à sec sous une pression réduite d'environ  
15 10 mbars, à une température de 40°C, de façon à obtenir un résidu. Le  
résidu est repris par 400 ml d'eau distillée et séché par lyophilisation.

On obtient un extrait contenant 94,5 % en poids d'acides  
chlorogéniques, dont 50 % en poids d'acide 5-caféylquinique.

*2) Préparation d'un extrait de thé vert*

20 On introduit 1 kg de thé vert dans un ballon et on ajoute  
8 litres d'eau chaude à 80°C ; on laisse infuser pour l'extraction  
pendant 60 minutes sous faible agitation en maintenant la température.  
On filtre ; on ajoute à la solution obtenue 3 kg de chlorure de sodium  
de façon à précipiter les tanins et on filtre les tanins. On traite le filtrat  
25 salé par 6 litres d'acétate d'éthyle. On concentre la phase organique à  
50°C sous une pression réduite de 10 mbars. Lorsque l'on obtient 300  
ml de concentrat, on ajoute 1 litre d'eau distillée. On élimine l'acétate  
d'éthyle par évaporation à 50°C sous une pression réduite de 10 mbars.  
On obtient 800 ml d'une phase aqueuse qu'on lave à l'aide de 300 ml  
30 de chloroforme. On élimine ensuite le chloroforme à une température  
de 40°C sous une pression réduite de 10 mbars. Pour finir, on sèche le  
résidu obtenu par nébulisation de façon à obtenir un extrait sec.

Cet extrait est constitué d'environ 75 % en poids des  
monomères suivants dans les proportions pondérales indiquées ci-  
35 dessous :



(+)-catéchine	3 %
(-)-épicatéchine	7 %
(-)-épicatéchine-3-O-galloylée	7 %
(+)-gallocatéchine	13 %
(-)-épigallocatéchine	17 %
(+)-gallocatéchine-3-O-galloylée	27 %

Le pourcentage restant est constitué essentiellement par des oligomères de ces monomères.

### 3) Préparation d'un extrait de pépins de raisin

- On introduit 1 kg de pépins de raisin dans un ballon et on
- 5 ajoute 8 litres d'eau chaude à 80°C ; on laisse infuser pour l'extraction pendant 60 minutes sous faible agitation en maintenant la température. On filtre ; on ajoute à la solution obtenue 3 kg de chlorure de sodium de façon à précipiter les tanins et on filtre les tanins. On traite le filtrat salé par 6 litres d'acétate d'éthyle. On concentre la phase organique à
- 10 50°C sous une pression réduite de 10 mbars. Lorsque l'on obtient 300 ml de concentrat, on ajoute 1 litre d'eau distillée. On élimine l'acétate d'éthyle par évaporation à 50°C sous une pression réduite de 10 mbars. On obtient 800 ml d'une phase aqueuse qu'on lave à l'aide de 300 ml de chloroforme. On élimine ensuite le chloroforme à une température
- 15 de 40°C sous une pression réduite de 10 mbars. Pour finir, on sèche le résidu obtenu par nébulisation de façon à obtenir un extrait sec.

### 4) Préparation d'un mélange d'extraits de café vert et de thé vert

- On a dissout dans de l'eau distillée des poids égaux de
- 20 l'extrait de café vert et de l'extrait de thé vert préparés ci-dessus et on a séché par nébulisation.

### 5) Préparation d'un mélange d'extraits de café vert et d'extraits de pépins de raisin

- On a mélangé comme au point 4) ci-dessus des poids égaux
- 25 d'extrait de café vert et d'extrait de pépins de raisin.

### B) Etude du pouvoir filtrant

#### a) Spectre d'absorption

On a préparé avec chacun des extraits et mélanges d'extraits préparés en A) des solutions à 0,1 mg/ml dans l'eau et on a

mesuré le spectre d'absorption et la transmission dans un appareil de type HITACHI U-2000.

- 1) L'extrait de café vert présente un spectre d'absorption qui couvre une zone comprise entre 270 à 360 nm avec un maximum à 323 nm et un épaulement à 281 nm. La solution ne permet qu'une transmission inférieure à 10 % pour les longueurs d'onde comprises entre 270 et 350 nm.
- 2) L'extrait de thé vert présente un spectre d'absorption qui couvre une zone comprise entre 270 et 290 nm avec un maximum autour de 280 nm. La solution ne permet qu'une transmission inférieure à 10 % pour les longueurs d'onde comprises entre 270 et 290 nm.
- 3) L'extrait de pépins de raisin présente un spectre d'absorption entre 270 et 290 nm avec un maximum à environ 280 nm. La solution ne permet qu'une transmission inférieure à 10 % pour les longueurs d'onde comprises entre 270 et 290 nm.
- 4) Le mélange poids pour poids d'extrait de café vert et d'extrait de thé vert présente un spectre d'absorption entre 270 nm et 360 nm avec deux maxima distincts respectivement à 285 et 325 nm. La transmission est inférieure à 10 % pour les longueurs d'onde comprises entre 270 et 350 nm.
- 5) Le mélange poids pour poids d'extrait de café vert et d'extrait de pépins de raisin présente un spectre d'absorption couvrant la zone entre 270 et 360 nm avec deux maxima respectifs à 285 et 325 nm. La transmission est inférieure à 10 % pour les longueurs d'onde comprises entre 270 et 350 nm.

*b) Coefficient de protection solaire (CPS)*

La protection offerte par les différents extraits ou mélanges d'extraits a été estimée in vitro selon la technique décrite par DIFFEY et ROBSON (J. Soc. Cosmet., 40, 127-133, 1989).

La formule protectrice étudiée a été préparée à partir de mélanges A et B ayant la formulation suivante :

Mélange A

Vaseline officinale	2 g
Acide stéarique	3 g
Alcool stéarique	2 g
Propyl paraben	0,015 g

Mélange B

	Eau distillée	70,410 g
	Extrait ou mélange d'extraits	10 g
	Propylène glycol	12 g
5	Laurylsulfate de sodium	0,5 g
	Sel disodique d'acide éthylène diamine tétracétique (EDTA disodique)	0,05 g
	Méthyl paraben	0,025 g

10 Les mélanges A et B sont chauffés séparément à 80°C sous agitation jusqu'à l'obtention de liquides limpides. Le mélange A est ensuite ajouté lentement au mélange B en agitant ; l'agitation est maintenue jusqu'à ce que le gel obtenu soit à température ambiante (20-25°C).

15 La préparation obtenue contient 10 % en poids d'extrait ou mélange d'extraits ; elle est appliquée in vitro sur un stratum corneum humain non délipidé.

On a obtenu les valeurs suivantes de CPS in vitro pour les mélanges d'extraits 4 et 5 :

20	4 - Extraits de café vert + thé vert .....	33,7 ± 6,8
	5 - Extraits de café vert + pépins de raisin .....	18,5 ± 4,8

Ces essais montrent que les agents protecteurs contenant des acides hydroxycinnamiques et des monomères et/ou oligomères de phénol de type catéchique sont des filtres de type écran total.

25 *c) Etude du potentiel antiradicaux libres des extraits ou mélange d'extraits*

Le potentiel antiradicalaire vis-à-vis des radicaux libres générés par les UV a été recherché sur culture de fibroblastes humains issus de peau de prépuce de nouveau-nés ou de plasties mammaires.

30 Afin de s'affranchir de la protection par effet filtre déjà mise en évidence, l'extrait ou mélange d'extraits a été introduit dans le milieu avant et après l'irradiation UV (effet préventif et curatif). Des solutions dans l'eau de 0,1 mg/ml ou de 10 microgrammes par ml ont été appliquées et la dose d'UVB utilisée était de 290 mJ/cm<sup>2</sup>.

On a obtenu les activités protectrices suivantes :

	100 $\mu$ g/ml	10 $\mu$ g/ml
Extrait de café vert	0 %	17 %
Extrait de thé vert	-	14 %
Extrait de pépins de raisin	32 %	-
Extraits de café vert + thé vert	-	40 %
Extraits de café vert + pépins de raisin	50 %	-

- Ces résultats montrent que lorsqu'on utilise, selon
- 5 l'invention, un mélange d'un extrait contenant des acides hydroxycinnamiques et d'un extrait contenant des monomères et/ou oligomères de phénol de type catéchique, il existe une synergie en ce qui concerne le potentiel antiradicalaire.

### REVENDEICATIONS

1 - Composition cosmétique ou pharmaceutique utilisable par voie topique ou par voie orale contenant, dans un support approprié, un agent protecteur ayant des propriétés antiradicalaires et  
5 un pouvoir filtrant vis-à-vis des rayons ultraviolets, caractérisée par le fait que l'agent protecteur comporte :

- 1) au moins un monomère et/ou oligomère de phénol de type catéchique d'origine végétale, et
- 2) au moins un acide hydroxycinnamique d'origine  
10 végétale.

2 - Composition selon la revendication 1, caractérisée par le fait que le(s) monomère(s) et/ou oligomère(s) de phénol de type catéchique est (sont) extrait(s) du thé vert, de racines de potentille, de  
15 pépins de raisin ou d'écorce de pin.

3 - Composition selon la revendication 2, caractérisée par le fait que le(s) monomère(s) et/ou le(s) oligomère(s) de phénol de type catéchique est (sont) extrait(s) par un procédé comportant les étapes  
suivantes :

- a) on extrait le végétal à l'eau chaude,
- 20 b) on précipite les tanins de la phase aqueuse obtenue par addition d'un sel minéral, en particulier le chlorure de sodium et on filtre les tanins,
- c) on traite le filtrat salé obtenu par l'acétate d'éthyle,
- d) on concentre la phase organique obtenue sous pression  
25 réduite,
- e) on ajoute de l'eau distillée,
- f) on élimine l'acétate d'éthyle par évaporation sous pression réduite à une température ne dépassant pas 50°C environ,
- g) on lave au moins une fois la phase aqueuse obtenue à  
30 l'aide d'un solvant polaire chloré,
- h) on élimine le solvant polaire chloré résiduel de la phase aqueuse lavée, en particulier par évaporation sous pression réduite à une température ne dépassant pas 50°C environ , et
- i) on sèche le concentré aqueux obtenu pour obtenir un  
35 extrait.

- 4 - Composition selon l'une des revendications 2 ou 3 dont le(s) manomère(s) et/ou oligomère(s) de type catéchique est (sont) extrait(s) du thé vert, caractérisée par le fait que l'extrait de thé vert est constitué d'environ 75 % en poids de monomères de phénol de type catéchique dans les proportions pondérales suivantes :

(+)-catéchine	3 %
(-)-épicatéchine	7 %
(-)-épicatéchine-3-O-galloylée	7 %
(+)-gallocatéchine	13 %
(-)-épigallocatéchine	17 %
(+)-gallocatéchine-3-O-galloylée	27 %

le reste étant essentiellement constitué par des oligomères de phénol de type catéchique.

- 5 - Composition selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée par le fait que le(s) acide(s) hydroxycinnamique(s) est(sont) choisi(s) dans le groupe formé par l'acide p-coumarique, l'acide férulique, l'acide sinapique et les acides chlorogéniques.

6 - Composition selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée par le fait que le(s) acide(s) hydroxycinnamique(s) est(sont) extrait(s) du café vert.

- 7 - Composition selon la revendication 6, caractérisée par le fait que l'extrait de café vert contient plus de 90 % d'acides chlorogéniques.

- 8 - Composition selon l'une des revendications 6 ou 7, caractérisée par le fait que l'extrait de café vert est obtenu par un procédé selon lequel on traite des grains de café vert broyés à l'aide d'un solvant des graisses et de la caféine, on extrait le produit obtenu par un solvant polaire aqueux des acides chlorogéniques, on évapore le solvant polaire sous pression réduite à une température n'excédant pas 50°C, on épuise la phase aqueuse restante par un solvant des acides chlorogéniques non-miscible à l'eau, on concentre sous pression réduite la phase organique obtenue à une température n'excédant pas 50°C, on reprend le résidu par l'eau distillée et on le sèche pour obtenir l'extrait sec.

9 - Composition selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisée par le fait que le(s) acide(s) hydroxycinnamique(s) et le(s) monomère(s) et/ou oligomère(s) de phénol de type catéchique sont sous forme de solution aqueuse.

5                    10 - Composition selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisée par le fait que dans le mélange constituant l'agent protecteur, la proportion pondérale du (des) acide(s) hydroxycinnamique(s) par rapport au(x) monomère(s) et/ou oligomère(s) de phénol de type catéchique est comprise entre 1/9 et 4.

10                   11 - Composition selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée par le fait qu'elle contient entre 0,01 et 50 % en poids d'agent protecteur par rapport au poids total de la composition.

REPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL  
de la  
PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE  
PRELIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

2734478

N° d'enregistrement  
national

FA 514514  
FR 9506098

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	US-A-5 306 486 (J. P. MCCOOK)	1,2,4,9, 11
Y	* colonne 2 * * colonne 3, ligne 10 * * revendications 1,2 *	1-4,9,11
D,Y	FR-A-1 427 100 (SOCIÉTÉ CIVILE DE RECHERCHE PHARMACEUTIQUE ET THÉRAPEUTIQUE) * le document en entier *	1-4,9,11
A	US-A-4 698 360 (J. MASQUELIER) * le document en entier *	1-11
Y	FR-A-2 699 818 (L'OREAL) * le document en entier *	1,2,4-6, 10,11
Y	EP-A-0 629 397 (LABORATOIRES DR. N. G. PAYOT) * page 2, ligne 1-30 * * page 3, ligne 5-56 * * revendications 1,3,6,10,11 *	1,2,4-6, 10,11
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.Cl.6)
		A61K
Date d'achèvement de la recherche		Examinateur
28 Février 1996		Sierra Gonzalez, M
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		
<p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons &amp; : membre de la même famille, document correspondant</p>		

1

EPD FORM 1503 01.82 (P04C13)



FILED BY IDS

cited in the European Search  
Report of EP02 01 2300-6  
Your Ref.: 450653 EP (701494 EP)

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

(11) N° de publication :  
(A n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction).

**2 302 745**

A1

**DEMANDE  
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

**N° 75 07316**

(54) Esters hétérosidiques d'acide caféique, leurs procédés de préparation et médicaments contenant de tels esters.

(51) Classification internationale (Int. Cl.<sup>2</sup>). A 61 K 31/70; C 07 H 15/18.

(22) Date de dépôt ..... 7 mars 1975, à 16 h 24 mn.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée :

COPY

(41) Date de la mise à la disposition du  
public de la demande ..... B.O.P.I. — «Listes» n. 40 du 1-10-1976.

(71) Déposant : Société dite : SOCIÉTÉ CIVILE DE RECHERCHES ET D'ÉTUDES NOUVELLES  
S.C.R.E.E.N., résidant en France.

(72) Invention de :

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet Plasseraud.

L'invention est relative à de nouveaux médicaments et à la préparation de leurs principes actifs par extraction à partir de matières végétales.

Il est connu que l'on peut extraire de certains végétaux des esters hétérosidiques d'acide caféique. Plus précisément, on a préparé un ester hétérosidique, dérivé d'acide caféique, de rhamnose, de glucose et de dihydroxyphényléthanol, auquel on a donné le nom de verbascoside pour rappeler la plante particulière d'où il était extrait, le *Verbascum sinuatum*. Toutefois, les recherches effectuées sur ces produits se sont limitées à des études de structure, et on ne leur avait trouvé, à ce jour, aucune propriété qui puisse les rendre utiles dans une application industrielle quelconque.

La présente invention résulte de la découverte que des esters hétérosidiques d'acide caféique, que l'on peut extraire de divers végétaux et plus particulièrement des plantes des familles des Scrofulariacées, des Orobanchacées, des Labiées ou des Acanthacées, présentent des propriétés pharmacologiques intéressantes qui les rendent utiles dans la constitution de médicaments.

Conformément à l'invention, on peut extraire des principes actifs, constitués notamment d'esters hétérosidiques d'acide caféique et utiles en pharmacie, par un procédé suivant lequel on fait macérer des plantes constituées par des plantes tubiflorales, de préférence des Scrofulariacées, des Orobanchacées, des Labiées, des Acanthacées ou des plantes analogues, dans un alcool, on recueille la solution alcoolique, on fait évaporer l'alcool, on soumet la phase aqueuse résiduelle à une extraction par l'acétate d'éthyle et on recueille la fraction soluble dans l'acétate d'éthyle. L'alcool peut être notamment l'éthanol ou le méthanol.

Il est en outre préférable de soumettre les plantes utilisées à un dégraissage préalable, de préférence effectué à l'éther de pétrole.

Ce traitement peut avantageusement être complété par un dégraissage du résidu de la solution alcoolique, effectué avant l'extraction par l'acétate d'éthyle, au moyen d'un solvant dégraissant tel que l'éther éthylique et/ou l'éther de pétrole. On peut ainsi procéder notamment comme suit : la plante entière, séchée, est broyée, puis dégraissée par de l'éther de pétrole dans un appareil du type Soxhlet. Le résidu, ou marc, débarrassé d'éther de pétrole, est traité par macération dans de l'alcool

éthylque à 80°. La solution alcoolique est soumise à une concentration sous vide jusqu'à élimination de l'alcool. La phase liquide aqueuse restante est ensuite dépigmentée par traitement à l'éther, lequel est éliminé, puis elle est traitée par de l'acétate d'éthyle. La phase à l'acétate d'éthyle est déshydratée et concentrée à sec ; elle laisse alors déposer une poudre blanc crème, qui constitue un extrait selon l'invention.

Selon un mode de mise en oeuvre préféré du procédé, on peut notamment utiliser des plantes de la famille des Orobanchacées, qui sont des phanérogames parasites dépourvus de chlorophylle, et, parmi ces plantes, plus particulièrement les espèces du genre *Orobanche* et celles du genre *Phelypaea*. Ces espèces présentent l'avantage d'être relativement riches en dérivés caféiques et de conduire, par conséquent, à de bons rendements d'extraction.

Toutefois, les plantes de la famille des Scrofulariacées, telles que le *Verbascum*, et celles de la famille des Acanthacées, telles que *Acanthus*, ont l'intérêt d'être souvent plus facilement disponibles. Le procédé est avantageusement complété, tout spécialement dans ce cas, par une purification de l'extrait en milieu aqueux, sur cellulose notamment, puis par une nouvelle extraction par de l'acétate d'éthyle additionné de méthanol.

Le procédé selon l'invention permet d'obtenir notamment des extraits que l'on appellera par la suite "extraits polyphénoliques", dont l'analyse montre qu'il s'agit de mélanges contenant essentiellement divers isomères constitués d'esters hétérosidiques d'acide caféique dérivés d'un hétéroside de dihydroxyphénylalcaneol et présentant plus particulièrement la formule :



dans laquelle X est un groupement :

$-(\text{CH}_2)_n-$  où n est un entier de 1 à 6,

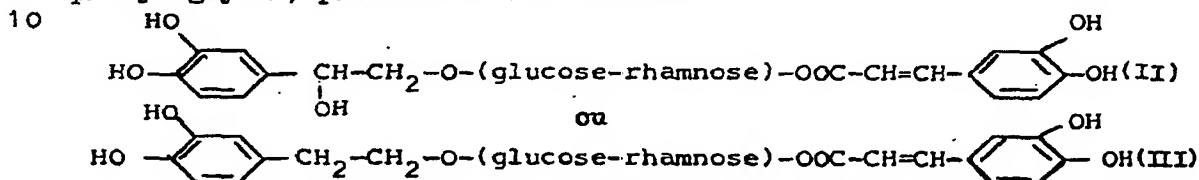
ou  $-\text{CH}(\text{OH})-(\text{CH}_2)_m-$  où m est un entier de 0 à 5.

Certains des isomères peuvent avantageusement être séparés à partir de cet extrait complexe en complétant le procédé par une ou plusieurs recristallisations dans l'eau.

Les proportions relatives des isomères dans l'extrait polyphénolique varient suivant les conditions de traitement et suivant la nature précise des plantes utilisées.

Naturellement, l'invention a aussi pour objet les composés obtenus conformément au procédé déjà défini.

Parmi les composés de formule (I), des composés préférés selon l'invention sont les esters hétérosidiques d'acide caféique dérivés d'hétérosides de dihydroxyphényl-éthanol et de dihydroxyphényl-glycol, présentant les formules



De tels composés se trouvent en quantités particulièrement importantes dans les extraits polyphénoliques des Acanthacées ou Scrofulariacées pour un composé de formule (III) auquel on a donné le nom de verbascoside, et dans les extraits polyphénoliques des Orobanchacées pour un composé de formule (II) auquel on a donné le nom d'orobanchoside. Ils peuvent être isolés par cristallisation à partir des solutions aqueuses d'extrait polyphénolique et purifiés par recristallisation dans l'eau ou l'alcool.

D'autres isomères des esters caféiques selon l'invention peuvent encore être obtenus par chauffage en milieu légèrement acide du verbascoside ou de l'orobanchoside, ou de leurs mélanges, ou encore directement de l'extrait polyphénolique. Ainsi, le chauffage en milieu légèrement acide de l'orobanchoside, de préférence par ébullition en milieu à pH 6 à 6,8, conduit à un isomère présentant la formule générale déjà indiquée et que l'on a dénommé "isoorobanchoside". De même le chauffage en milieu légèrement acide du verbascoside, dans des conditions analogues, conduit à un isomère de la même formule générale que l'on a dénommé "isoverbascoside".

Tous les isomères ainsi isolés présentent, comme l'extrait polyphénolique, des propriétés pharmacologiques qui en font des principes actifs utiles pour la constitution de médicaments. De plus, ils ont l'avantage de pouvoir être obtenus facilement à l'état cristallisé, séparément ou en mélange, par le procédé selon l'invention.

L'invention vise donc également les médicaments qui contiennent comme principe actif au moins un ester hétérosidique d'acide caféique, et notamment ceux qui contiennent au moins un ester hétérosidique d'acide caféique dérivé d'un hétéroside de dihydroxyphényl-alcanol, présentant de préférence la formule (I) ci-dessus, ou plus particulièrement la formule (II), ou qui contiennent au moins un principe actif tel que ceux que l'on peut extraire de plantes de la famille des Orobanchacées, des Scrofulariacées, des Labiées ou des Acanthacées, par le procédé déjà défini, dans ses différentes variantes de mise en œuvre.

Ces principes actifs présentent en particulier des propriétés potentialisatrices de la dihydroxyphénylalanine, ou dopa, et ils sont donc avantageusement administrés, en combinaison avec la dopa, dans les différentes indications thérapeutiques de celle-ci, la plus importante de ces indications concernant actuellement le traitement de la maladie de Parkinson.

On sait que la dopa, et plus particulièrement sa forme lévogyre ou L.dopa, est considérée comme le plus efficace des médicaments antiparkinsoniens. Malheureusement, ce médicament entraîne une série d'effets secondaires qui affectent les fonctions d'activité cardio-vasculaire, et dont l'intensité peut aboutir à une intolérance. On sait également que ces effets sont dus à la présence en grande quantité de dopamine provenant de l'activité extra-cérébrale de la dopa-décarboxylase qui assure la décarboxylation de la dopa. C'est pourquoi il est d'un grand intérêt, dans le traitement de la maladie de Parkinson, de pouvoir associer à la L.dopa un inhibiteur de la dopa-décarboxylase extra-cérébrale. Les principes actifs selon l'invention se sont révélés des inhibiteurs de ce type.

De plus, ils ont l'avantage de présenter une activité plus longue et plus efficace que celle de composés chimiques d'origine synthétique, comme l'acide caféique lui-même, et ils sont dénués d'effet secondaire.

Les principes actifs selon l'invention présentent également d'autres propriétés pharmacologiques. En particulier, les extraits polyphénoliques présentent une activité  $\beta$ -bloquante qui renforce encore leur intérêt dans le traitement de la maladie de Parkinson. En effet, on évite alors d'avoir à administrer des médicaments  $\beta$ -bloquants parallèlement aux médicaments potentialisateurs de dopa, comme il est usuel dans le traitement de

la maladie de Parkinson, ou tout au moins on peut diminuer sensiblement les doses administrées, et les activités nécessaires se trouvent réunies dans un même produit d'origine végétale, d'effet moins fugace et mieux toléré que les produits utilisés de manière classique.

Il est bien évident que l'invention a aussi pour objet les compositions pharmaceutiques préparées en particulier pour le traitement de la maladie de Parkinson, qui contiennent un ester hétérosidique d'acide caféique, ou, plus particulièrement, un principe actif obtenu par le procédé selon l'invention, en association avec la dihydroxyphénylalanine, de préférence sous sa forme lévogyre.

L'invention sera maintenant décrite plus en détail dans le cadre d'exemples particuliers, nullement limitatifs, décrivant la préparation des principes actifs, leur constitution et leurs propriétés pharmacologiques.

EXEMPLE 1 - Préparation d'un extrait polyphénolique

Un extrait polyphénolique est préparé de la manière suivante, à partir de plantes du genre Orobanche, et plus particulièrement des espèces Orobanche hederæ Duby et Orobanche rapum Thuill.

Les plantes entières, récoltées en juin-juillet, sont mises à sécher immédiatement après la récolte, dans un local aéré, et à l'abri de la lumière.

400 g de plante entièrement sèche, après broyage en poudre demi-fine, sont dégraissés et dépigmentés avec 6 litres d'éther de pétrole (40°-60°) dans un appareil de type Soxhlet pendant 10 à 12 heures.

La poudre végétale ainsi traitée est séchée à l'air, puis mise à macérer à la température de 40°C avec 5 fois 2 litres d'éthanol à 80° et sous agitation mécanique.

Après filtration du marc, les 10 litres de solution alcoolique sont additionnés de 20 ml d'une solution aqueuse de métabisulfite de sodium à 10% qui diminue l'oxydation des principes phénoliques actifs.

Ces solutions, laissées une nuit au réfrigérateur (4°C), sont filtrées puis concentrées, de façon à chasser l'alcool, à l'évaporateur rotatif, sous vide et à faible température (30°C).

L'extrait, devenu aqueux, subit à son tour un dégraissage et une dépigmentation par agitation avec un mélange de :

éther éthylique (débarrassé de ses peroxydes)

éther de pétrole (40°-60°)

dont les volumes respectifs sont 2,5/0,5 litres.

5 Ce même extrait aqueux, débarrassé des traces d'éther, est alors rendu un peu plus aqueux par addition d'eau et épuisé par 18 litres d'acétate d'éthyle redistillé (qui entraîne les principes actifs) dans des ampoules à décantation agitées mécaniquement.

10 Les phases à l'acétate d'éthyle sont desséchées par du sulfate de sodium (pur, sec, de Prolabo) et évaporées à sec, sous vide, jusqu'à disparition complète du solvant organique.

On obtient ainsi 40 g de produit sous la forme d'une poudre légère de couleur blanc crème, qui constitue l'extrait polyphénolique.

15 Rendement : 10% du poids de la plante sèche.

EXEMPLE 2 - Préparation d'orobanchoside.

20 On fait dissoudre un extrait polyphénolique préparé conformément à l'exemple 1 dans de l'eau distillée chaude, de manière à obtenir une solution à 20% de cet extrait. Après refroidissement de la solution jusqu'à la température ambiante, il se forme des cristaux en longues aiguilles, de couleur beige clair, que l'on recueille. Ces cristaux constituent l'orobanchoside brut.

25 On purifie les cristaux d'orobanchoside par dissolution dans de l'éthanol absolu, à chaud, en présence d'un peu de charbon végétal en poudre du type connu sous la dénomination "Norit" (Prolabo). La solution est filtrée sur une petite colonne de cellulose (300 M.N.) de un centimètre de hauteur sur deux centimètres de diamètre, bien lavée au préalable à l'eau et à l'éthanol.

30 Le filtrat alcoolique est concentré à l'évaporateur rotatif, sous vide, jusqu'à l'apparition d'un trouble. On laisse cristalliser au réfrigérateur (à + 4°C). Les cristaux ainsi obtenus sont essorés, séchés et recristallisés une ou deux fois dans l'éthanol absolu.

35 Rendement en orobanchoside purifié : 2% du poids de plante sèche.

Les caractéristiques physico-chimiques du produit obtenu sont rassemblées ci-après :

a) Propriétés physiques.

40 - point de fusion : pris au banc de koepler

fusion nette :  $209^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

assez soluble dans l'eau bouillante.

5 soluble dans les solutions alcooliques et  
hydroalcooliques,  
insoluble dans l'éther, le chloroforme, le  
benzène.

### b) Analyse élémentaire

10      trouvé : C = 54,50 %      H = 5,78 %  
             C = 54,62 %      H = 5,87 %  
             calculé : C = 54,37 %      H = 5,62 % pour  $C_{29}H_{36}O_{16}$

c) Analyse par chromatographie en couche mince.

15                    Adsorbant : couche de cellulose Merck toute prête sur feuille d'aluminium

Solvant : acide acétique à 2% dans l'eau

**Durée de migration : une heure 30 minutes**

Révélateurs : U.V. et p.nitraniline diazotée (coloration  
jaune beige)

20            Rf : 0,43 - 0,44.

d) Analyse spectrale.

- Spectre U.V. (dans méthanol) : maximum 223-(233)-(246)-291-335  
minimum 265

25 - Spectre en infrarouge (en pastille de KBr) - Places des  
bandes en  $\text{cm}^{-1}$  : 3420 - 2960 - 2935 - 1720 - 1605 - 1520 -  
1450 - 1380 - 1300 - 1270 - 1130 - 1060 -  
1040 - 1020 - 980 - 850 - 810 - 780 -  
570.

- Spectre de résonance magnétique nucléaire (RMN)

30 - 6 protons aromatiques 6,4 ppm  $\delta$  7,2 ppm  
- 2 protons double liaison trans J = 15 Hz ( $\delta$  = 6,2 ppm  $\delta$  = 7,5 ppm)

- 3 protons méthyl J = 6 Hz  $\delta$  = 1,05 ppm  
- 1 proton  $\delta$  = 5,03 ppm (C<sub>1</sub> rhamnosyl)

35 - 1 proton  $\delta$  = 4,58 ppm (C<sub>1</sub> glucosyl) (J = 7 Hz)  
+ 13 ou 14 protons compris entre 3 ppm et 5,1 ppm.

e) Formule chimique.

Des résultats d'analyse ci-dessus et de l'examen des produits séparés par chromatographie en couche mince de cellulose après hydrolyse alcaline de l'orobanchoside, on peut déduire  
40 que celui-ci est formé de :



1 molécule d'acide caféique  
1 molécule de glucose  
1 molécule de rhamnose  
1 molécule d'alcool  $\beta$ -hydroxy-p(dihydroxy-3,4-phényl)

5 éthylique conformément à la formule (II).

EXEMPLE 3 - Préparation d'isoorobanchoside.

L'orobanchoside préparé selon l'exemple 2 est soumis à un chauffage en milieu aqueux, à pH légèrement inférieur à 7, de l'ordre de 0,5 et maintien de la solution à l'ébullition pen-  
10 dant 3 heures.

On laisse ensuite refroidir la solution. Des cristaux se déposent ; on les essore et on les purifie, comme décrit dans l'exemple 2. Le produit obtenu, ou isoorobanchoside, est un isomère de l'orobanchoside de l'exemple 2 présentant la même formule  
15 générale (II).

EXEMPLE 4 - Préparation de verbascoside.

Le verbascoside est extrait des eaux-mères restant après séparation de l'orobanchoside cristallisé selon l'exemple 2 à partir d'un extrait polyphénolique préparé selon l'exemple 1 et  
20 dissous dans l'eau.

Ces eaux-mères sont laissées au réfrigérateur (4°C) dans un bécher recouvert d'un verre de montre permettant ainsi une certaine évaporation. Au bout d'une semaine environ apparaissent des cristaux réunis en petites boules dans le bécher.

25 Ces cristaux sont essorés et, après redissolution dans de l'eau à température ambiante (solution à 25-30%), sont remis à cristalliser au réfrigérateur.

Au bout de 48 heures, le verbascoside cristallise. On recommence l'opération jusqu'à obtention d'une tache unique de  
30 verbascoside sur les chromatogrammes.

Les caractéristiques physico-chimiques de ce produit sont réunies ci-après:

a) Propriétés physiques.

- Point de fusion : (banc de koeffler)  
35 ramollissement vers 158-160°C  
fusion nette vers 170-180°C
- Solubilités : soluble dans l'eau à froid  
soluble dans les alcools  
insoluble dans l'éther, le chloroforme, le  
40 benzène.

b) Chromatographie.

Le produit est analysé par chromatographie sur couche mince dans les mêmes conditions que l'orbanchoside dans l'exemple 2.

La tache correspondant au verbascoside se colore par la p.nitraniline diazotée en brun-jaunâtre bordée de mauve.

Rf = 0,57 (solvant : acide acétique 2%)

c) Analyse spectrale.

- Spectre U.V. (dans méthanol) :  $\lambda$  maximum : 223-(234)-(246)-  
291-333

10 minimum : 265.

- Spectre en infrarouge (en pastille de KBr) - Places des  
bandes en  $\text{cm}^{-1}$  : 3400 - 2920 - 1690 - 1595 - 1510 - 1440 -  
1370 - 1260 - 1160 - 1115 - 1060 - 1030 -  
980 - 810 - 780

15 - Spectre de résonance magnétique nucléaire

- 6 protons aromatiques ( $6,4 < \delta < 7,2$  ppm)

- 2 protons double liaison trans J = 15 Hz ( $\delta = 6,25$  ppm et  
 $\delta = 7,55$  ppm)

- 3 protons méthyl J = 6 Hz  $\delta = 1,05$  ppm

20 - 1 proton  $\delta = 5,12$  ( $\text{C}_1$  rhamnosyl)

- 1 proton  $\delta = 4,40$  ppm ( $\text{C}_1$  glucosyl) J = 7 Hz

+ 14 protons compris entre 2,6 ppm et 5,0 ppm

De ces résultats et de l'analyse des produits d'hydrolyse du verbascoside, on déduit que celui-ci est dérivé des mêmes  
25 constituants, glucose, rhamnose, acide caféique que l'orban-  
choside et de  $\beta$ (dihydroxy-3,4 phényl)éthanol et qu'il présente  
la formule (III).

EXEMPLE 5 - Préparation d'isoverbascoside.

Le verbascoside préparé selon l'exemple 4 est chauffé en  
30 milieu aqueux légèrement acide, comme décrit dans l'exemple 3,  
pour obtenir l'isoverbascoside, isomère de la même formule gé-  
nérale (III).

EXEMPLE 6.

Un extrait polyphénolique d'Orobanche préparé conformément  
35 à l'exemple 1 est soumis à une analyse par chromatographie en  
couche mince de cellulose dans de l'acide acétique à 2% dans  
l'eau. Après révélation du chromatogramme par les U.V. et la  
p.nitraniline diazotée, on peut distinguer :

en forte concentration - verbascoside : Rf = 0,57  
40 - orbanchoside : Rf = 0,43

en très faible concentration - isoverbascoside :  $R_f = 0,24 - 0,25$   
- isoorobanchoside :  $R_f = 0,18 - 0,20$   
à l'état de traces - acide caféique :  $R_f = 0,10$

Les caractéristiques physico-chimiques de l'extrait polyphénolique sont :

- Solubilités : soluble extemporanément dans l'eau à la température ambiante en solution moyennement concentrée (au bout d'une heure, laisse déposer à froid quelques cristaux d'orobanchoside)  
soluble dans les alcools et l'acétate d'éthyle,  
insoluble dans l'éther, le chloroforme, le benzène.
- Spectre U.V. (dans le méthanol) : celui des esters caféiques  
 $\lambda$  maximum : 221-(248)-291-335  
minimum : 266

#### EXEMPLE 7.

Des plantes du genre Verbascum sont séchées et broyées, puis traitées comme il a été décrit dans l'exemple 1, par dégraissage, extraction à l'alcool, dégraissage, extraction à l'acétate d'éthyle. On procède ainsi de la même façon que dans l'exemple 1, jusqu'à l'obtention de l'extrait éthéro-acétique restant après évaporation de l'acétate d'éthyle.

Cet extrait est ensuite dissout dans l'eau et purifié par passage sur une colonne de cellulose et élution grâce à une solution d'acide acétique à 1% dans l'eau. La phase aqueuse est extraite alors par de l'acétate d'éthyle additionné de 3% de méthanol.

Après séchage sur sulfate de sodium anhydre et évaporation à sec, on recueille un résidu pulvérulent de couleur crème, dont l'analyse montre qu'il est constitué en grande partie par du verbascoside répondant à la formule III.

#### EXEMPLE 8 - Etude toxicologique.

Les principes actifs, d'origine végétale, préparés selon l'invention sont sans toxicité et très bien tolérés.

Pour l'extrait polyphénolique obtenu conformément à l'exemple 1, les résultats de l'étude toxicologique sont les suivants :

- Toxicité aiguë : DL. 50 > 6 g/kg per os chez la souris  
DL. 50 > 6 g/kg IP chez la souris.

Le test de "traction" est positif 2 heures après l'ingestion du produit à forte dose (1 g/kg en I.P.). Ce test consiste

essentiellement à apprécier l'action du produit sur le tonus musculaire, selon la technique de JULOU et COURVCISIER :  
Psychotropic drugs, Milan (1957) 373.

- 5 - Toxicité chronique : à raison de 500 mg/kg-rat pendant 8 semaines. Rien à signaler.

Des résultats analogues sont obtenus avec chacun des principes actifs préparés conformément aux exemples 2 à 7.

EXEMPLE 9 - Activité potentialisatrice de la L.dopa.

- 10 La recherche de la potentialisation de l'activité anti-parkinsonienne de la L.dopa a été réalisée en étudiant l'antagonisme de ces deux substances associées vis-à-vis des tremblements provoqués chez la souris par l'oxotrémonine.

Les tremblements sont enregistrés graphiquement.

Dans tous les cas, le protocole suivant a été suivi :

- 15 Temps 0 = principe actif administré per os  
Temps 20 mn = L.dopa administrée per os  
Temps 40 mn = 500  $\gamma$ /kg d'oxotrémonine en I.P.

Les tremblements sont enregistrés pendant 45 minutes après l'administration d'oxotrémonine.

- 20 L'examen des résultats révèle la même activité anti-oxotrémonine avec :

L.dopa seule = 500 mg/kg per os

ou chacune des combinaisons principe actif + L.dopa suivantes :

- 25 1) Extrait polyphénolique d'Orobanche (exemple 1) = 50 mg/kg per os  
L.dopa = 50 mg/kg per os  
2) Extrait polyphénolique d'Orobanche (exemple 1) = 100 mg/kg per os  
L.dopa = 25 mg/kg per os  
30 3) Orobanchoside (exemple 2) = 100 mg/kg per os  
L.Dopa = 100 mg/kg per os  
4) Verbascoside (exemple 4) = 100 mg/kg per os  
L.dopa = 100 mg/kg per os.

- 35 Le mécanisme d'action de la potentialisation de la L.dopa est étudié "in vitro" dans les conditions

- Substrat = L.dopa
- Enzyme = poudre acétonique de broyat de rein de cobaye préparée à très basse température
- Inhibiteur enzymatique témoin = acide caféique.

Avec l'extrait polyphénolique obtenu selon l'exemple 1, dans les conditions de l'expérience (pH = 6,8), l'action inhibitrice de la dopa-décarboxylase est négative. Par contre, à pH alcalin, dans l'intestin et à 37°C, cet extrait libère l'acide caféique, qui est actif. Ceci peut expliquer l'activité inhibitrice de la dopa-décarboxylase si l'on admet qu'elle s'effectue dans l'organisme après hydrolyse de l'extrait.

EXEMPLE 10 - Action cardio-vasculaire.

- Pression centrale

10 La pression carotidienne a été mesurée sur des rats mâles de souche Wistar.

L'administration de 50 mg/kg de l'extrait polyphénolique de l'exemple 1, par voie intraveineuse, entraîne une hypotension franche et fugace, sans modification de la fréquence cardiaque.

15 - Oreillette isolée de rat.

Le même extrait polyphénolique d'Orobanche, à la dose de 5 mg dans une cuve de 40 ml, annule toutes les actions chronotropes et inotropes positives provoquées par 0,5 % d'isoprénaline, dans le test de l'oreillette isolée de rat, qui consiste à mesurer le rythme et les contractions d'une oreillette isolée maintenue en survie dans un liquide nutritif, selon la technique décrite dans J. Physiol (1926) - 61, 547.

L'extrait possède donc une action  $\beta$ -bloquante.

- Activité antihypertensive.

25 L'hypertension expérimentale réalisée par ischémie rénale (technique de Grollman : Proc. Soc. Biol. méd. 1944, 57, 102-104) est diminuée de deux points par administration quotidienne de 300 mg/kg per os d'extrait polyphénolique d'Orobanche préparé selon l'exemple 1.

30 La chute de la pression artérielle qui débute 3 jours après le début du traitement se maintient pendant toute la durée du traitement. Dix jours après l'arrêt du traitement, la pression artérielle rejoint sa valeur initiale.

Il est à noter que l'extrait ne modifie pas la pression artérielle des animaux normotendus.

- Activité antifibrillante.

Le même extrait polyphénolique n'antagonise pas la fibrillation chloroformique réalisée chez la souris selon la méthode de LAWSON.

40 EXEMPLE 11 - Activité analgésique

On détermine, pour des doses IP déterminées d'extrait polyphénolique d'Orobanche obtenu selon l'exemple 1, l'augmentation du seuil de la douleur, selon deux techniques qui utilisent respectivement un stimulus thermique (essai de la plaque chauffante) et un stimulus chimique (essai à la phénylbenzoquinone).

- Plaque chauffante : selon la méthode de WOOLFE (G.) - MAC DONALD (A.D.) J. Pharmacol. exptl. ther (1944) 80, 300.

Ce test est basé sur le principe suivant : une souris placée sur une plaque chauffée à 56°C réagit en 5 à 6 secondes par un lèchement des pattes antérieures ou par un saut. L'administration d'un analgésique a pour effet de prolonger le délai d'apparition de cette réponse.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant qui indique le % d'augmentation du délai d'apparition de la réponse à la douleur.

Temps après administration	30 mn	60 mn	90 mn
Dose : 500 mg/kg I.P.	92	80	50
Dose : 1 g/kg I.P.	170	130	100

- Phénylbenzoquinone : selon la méthode de SIGMUND : J. Pharmacol. exptl. ther (1957), 119, 184.

Ce test est basé sur le principe suivant : après administration préventive d'un analgésique, on injecte une solution alcoolique de phénylbenzoquinone qui a pour but de provoquer des torsions chez l'animal. Les analgésiques préviennent ou inhibent ce syndrome de torsion.

Les résultats sont rapportés ci-après, en % de diminution :

Temps en minutes	5	10	15	20	25	30
Dose : 500 mg/kg I.P.	100	78	69	74	67	65
Dose : 1 g/kg I.P.	100	94	91	85	83	85

Dans les conditions expérimentales et aux doses utilisées, l'extrait étudié possède une forte activité analgésique.

EXEMPLE 12 - Activité anti-inflammatoire : selon la méthode de WINTER - Proc. Soc. Exp. biol. méd. (1962) 111, 544-547.

- 5 L'injection d'une suspension de kaolin sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure du rat provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par les substances anti-inflammatoires.

- 10 Les résultats obtenus avec l'extrait polyphénolique de l'exemple 1 sont consignés dans le tableau suivant, où ils sont exprimés en % de diminution de l'enflure :

15

Temps en heure	1	2	3	4	5	6
Dose : 500 mg/kg I.P.	10	42	25	35	20	10

Dans les conditions expérimentales, le produit étudié possède une activité anti-inflammatoire.

- 20 EXEMPLE 13 - Actions psychotropes.

Le produit examiné est l'extrait polyphénolique d'Orobanche obtenu selon l'exemple 1.

- Curiosité et motilité.

- 25 Des souris Swiss sont soumises au test de la planche à trous, selon la méthode de BOISSIER (Thérapie (1962) 17, 1225-1232), qui consiste à étudier à la fois la mobilité et l'exploration chez la souris.

- 30 Les résultats sont exprimés en pourcentage de variation de l'investigation et de la motilité par rapport aux témoins, dans le tableau ci-après :

Doses	500 mg/kg I.P.	1 g/kg I.P.
Investigation	- 34%	- 79%
Motilité	- 33%	- 65%

- 35 Aux doses étudiées, le produit diminue l'investigation et la motilité.

- Etude des réflexes

Test de traction : test positif (aucune action du produit) à la dose de 1 g/kg I.P.

Test de rota rod, selon la technique de GROSS (Schw. med. wshr.

(1955) 85, 305, qui consiste à déterminer le temps pendant lequel une souris est capable de se maintenir en équilibre sur une tige horizontale tournant sur elle-même :

5 test positif (aucune action du produit) à la dose de 1 g/kg I.P.

- Potentialisation du sommeil.

10 La potentialisation de la narcose est un test utilisé pour mettre en évidence une action sédatrice générale. En effet, une substance ne provoquant pas le sommeil par elle-même peut, en association, prolonger la durée d'action d'un hypnotique.

La potentialisation de la narcose a été déterminée sur des souris mâles de souche Swiss par la technique de l'endormissement (technique de COURVOISIER Arch. int. pharmacod. ther. (1952) 92, 305 : le sommeil induit par une dose sub-hypnotique est prolongé sous l'effet d'un prétraitement par un psycholeptique).

500mg/kg administrés par voie intrapéritonéale entraîne une augmentation du temps de sommeil par rapport aux temps de sommeil des témoins de 43%.

20 Ainsi, le principe actif étudié, sans incidence sur les réflexes, diminue l'investigation et la motilité, et potentialise la narcose barbiturique, faisant preuve d'une action psycholeptique.

#### EXEMPLE 14

25 Des gélules utilisables en thérapeutique humaine sont dosées à 50 mg d'extrait polyphénolique d'Orobanche selon l'exemple 1 par gélule.

30 Cet extrait peut être administré à des doses journalières variant de 1 à 5 mg/kg, en association avec des doses journalières de L. dopa de 6 à 30 mg/kg.

A titre d'exemple, on administre à un patient souffrant de la maladie de Parkinson, 200 mg d'extrait par jour, en 3 ou 4 prises et en association avec une dose de 1 g de L.dopa par jour.

35 Comme il va de soi et comme il résulte d'ailleurs déjà de ce qui précède, l'invention ne se limite nullement à ceux de ses modes d'application et de réalisation qui ont été plus spécialement envisagés ; elle en embrasse, au contraire, toutes les variantes.



## REVENDEICATIONS

1 - Nouveaux médicaments, caractérisés en ce qu'ils contiennent, comme principe actif, au moins un ester hétérosidique d'acide caféique, notamment du type de ceux extraits de plantes de la famille  
5 des Scrofulariacées, des Orobanchacées, des Labiées ou des Acanthacées.

2 - Procédé d'extraction de principes actifs de médicaments, et notamment d'esters hétérosidiques d'acide caféique, à partir de plantes de la famille des Scrofulariacées, des Orobanchacées, des Labiées ou des Acanthacées, caractérisé en ce que l'on fait macérer la plante  
10 dans un alcool, tel que l'éthanol ou le méthanol, on recueille la solution alcoolique, on fait évaporer l'alcool, on reprend le résidu obtenu dans l'eau, on le soumet à une extraction par l'acétate d'éthyle, et l'on recueille la fraction soluble dans l'acétate d'éthyle.

15 3 - Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que la plante est soumise au préalable à un dégraissage par un solvant dégraissant, de préférence l'éther de pétrole.

4 - Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 ou 3, caractérisé en ce que le résidu de la solution alcoolique est soumis à un dégraissage par un solvant tel que l'éther éthylique, l'éther de pétrole, ou leurs mélanges, avant l'extraction par l'acétate d'éthyle.  
20

5 - Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que la plante sèche est broyée et dégraissée par l'éther de pétrole, le  
25 résidu débarrassé de l'éther de pétrole est traité par macération dans de l'alcool éthylique, la solution alcoolique est soumise à une concentration sous vide jusqu'à élimination de l'alcool, la phase liquide aqueuse restante est ensuite dépigmentée par traitement à l'éther, lequel est alors éliminé, puis traitée par de l'acétate d'éthyle, la phase à l'acétate d'éthyle est déshydratée et  
30 concentrée à sec, et l'on recueille la poudre qui cristallise.

6 - Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 5, caractérisé en ce qu'il comprend, en outre, une purification de ladite fraction soluble à l'acétate d'éthyle, préalablement dissout  
35 en milieu aqueux, de préférence par absorption des impuretés sur cellulose et élution par une solution diluée d'acide acétique, et extraction subséquente à l'acétate d'éthyle, de préférence additionné de méthanol.

7 - Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 6,  
40 caractérisé en ce que l'extrait à l'acétate d'éthyle, de préférence

déshydraté et concentré, est soumis à une étape de séparation de ses constituants par dissolution dans l'eau à chaud, refroidissement et séparation du produit qui cristallise au refroidissement, lequel est ensuite avantageusement purifié par recristallisation dans l'alcool, et filtration, notamment sur cellulose.

8 - Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que les eaux-mères restant après ladite séparation sont maintenues au froid, de préférence aux environs de + 4°C, jusqu'à cristallisation d'un autre produit qui est recueilli, et avantageusement purifié par recristallisation dans l'eau.

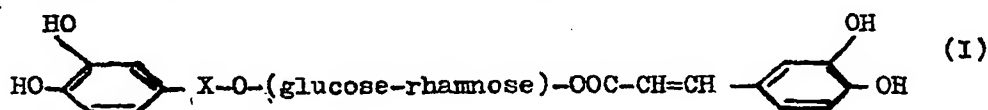
9 - Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 8, caractérisé en ce que le produit obtenu est ensuite soumis à un chauffage, par ébullition en milieu aqueux légèrement acide, à un pH de l'ordre de 6 à 6,8, et de préférence de l'ordre de 6,5.

10 - Principes actifs, notamment du type ester hétérosidique d'acide caféique, tels qu'obtenus par la mise en oeuvre du procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 9.

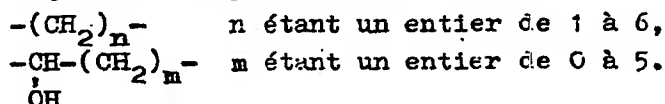
11 - Nouveaux médicaments, caractérisés en ce qu'ils contiennent au moins un principe actif selon la revendication 10.

12 - Nouveaux médicaments, caractérisés en ce qu'ils contiennent au moins un ester hétérosidique d'acide caféique dérivé d'un hétéroside de dihydroxyphénylalcaneol, notamment de dihydroxyphényléthanol ou de  $\beta$ -hydroxy  $\beta$ -(dihydroxyphényl)éthanol.

13 - Médicaments selon la revendication 12, caractérisés en ce que l'ester hétérosidique présente la formule



dans laquelle X représente un radical



14 - Composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un ester hétérosidique d'acide caféique, notamment un médicament selon l'une quelconque des revendications 11 à 13, en association avec la dihydroxyphénylalanine, de préférence sous sa forme lévogyre.